昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, February 2008, 51(2): 182 – 189 ISSN 0454-6296

秆野螟属部分种的线粒体 COⅡ基因序列分析及其分子系统学（鳞翅目：草螟科）

杨瑞生[1,2]，王振营[2,*]，何康来[2]，白树雄[2]

（1. 沈阳农业大学生物科学技术学院，沈阳 110161；
2. 中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室，北京 100094）

摘要：本文利用 mtDNA-COⅡ基因序列，研究了中国分布秆野螟属 *Ostrinia* 8 种螟虫的分子系统学和系统分化。结果表明：秆野螟属昆虫 COⅡ基因序列全长 682 bp，共编码 227 个氨基酸，8 种昆虫 12 个样品中核苷酸多态性位点百分率为 8.2%，氨基酸突变率为 2.2%。同种内不同种群间的遗传距离小于种间距离，种内不同地理种群间的遗传距离在 0～0.0044 之间，种间遗传距离在 0.0015～0.063 之间。基因变异转换数（Ts）明显高于颠换数（Tv）。分别采用 UPGMA 法、NJ 法和 MP 法构建的分子系统树显示，种间进化关系基本一致：秆野螟属 8 种昆虫明显分为 2 个大群，虎杖螟 *O. latipennis* 与其他 7 种亲缘关系最远，单独形成一个群；在另外 1 个大群中又分为 3 个亚群，亚洲玉米螟 *O. furnacalis* 不同地理种群首先聚在一起形成 1 个亚群，酒花螟 *O. kurentzovi* 与麻螟 *O. narynensis* 亲缘关系最近，聚在一起形成的分支又与欧洲玉米螟 *O. nubilalis*、苍耳螟 *O. orientalis* 和豆秆野螟 *O. scapulalis* 聚在一起形成 1 个亚群，刺菜螟 *O. zealis* 在该大群内与其他种亲缘关系最远，单独形成 1 个亚群。

关键词：秆野螟属；mtDNA-COⅡ；分子系统学；系统分化；分子系统树

中图分类号： **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2008)02-0182-08

Sequence analysis of mtDNA-COⅡ gene and molecular phylogeny of *Ostrinia* spp. from China (Lepidoptera: Crambidae)

YANG Rui-Sheng[1,2], WANG Zhen-Ying[2,*], HE Kang-Lai[2], BAI Shu-Xiong[2] (1. Bioscience and Biotechnology College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; 2. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China)

Abstract: The molecular phylogeny and phylogenic differentiation of eight species of the genus *Ostrinia* from China were studied based on mtDNA-COⅡ gene sequences. The COⅡ gene with 682 bp encoding 227 amino acids was successfully amplified. There is a polymorphic rate of 8.2% in COⅡ genes, and a mutation rate of 2.2% in amino acids in all specimens. The genetic distance among different geographic populations in one species, with a range of 0 – 0.0044, is smaller than that among different species with a range of 0.0015 – 0.063. The amount of transitional base is much more than that of transversional base. By using UPGMA, Neighbor-joining (NJ) and Maximum parsimony (MP) methods, the molecular phylogeny of the eight species was constructed based on mtDNA-COⅡ gene, which were divided into two groups: one group with a single species (*O. latipennis*), and the other group with the other seven species. In the group with seven species there were three subgroups: the four geographic populations of *O. furnacalis* formed a subgroup; another subgroup included *O. kurentzovi*, *O. narynensis*, the two geographic populations of *O. nubilalis*, *O. orientalis* and *O. scapulalis*, among which *O. kurentzovi* and *O. narynensis* had the closest relationship, forming a sister group; and *O. zealis* had farthest relationship with the other six species in the group, forming a subgroup alone.

Key words: *Ostrinia*; mtDNA-COⅡ; molecular phylogeny; phylogenetic differentiation; phylogenetic tree

---

作者简介：杨瑞生，男，1974 年生，博士研究生，讲师，主要从事昆虫分子遗传学及害虫综合治理方面的教学与研究工作，Tel.：010-62815945；E-mail：khankhan2000@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.：010-62815945；E-mail：zywang@ippcaas.cn

收稿日期 Received：2007-08-28；接受日期 Accepted：2007-12-20

分子生物技术在昆虫分子系统学和系统发育研究中的应用开始于 20 世纪 80 年代末，20 世纪 90 年代以来，该领域的研究得到了迅猛发展。利用昆虫遗传物质，从各个水平探索昆虫的系统发育、遗传变异和进化机制等问题，从生命的本质上探索昆虫的遗传进化和系统发育已经成为当前昆虫系统学研究中的一个新热点（李正西和沈佐锐，2002；卜云和郑哲民，2005）。昆虫分子系统学研究可利用的遗传物质很多，包括核 DNA 和 mtDNA，其中 mtDNA 应用得最为广泛。mtDNA 是封闭的双链环状 DNA，以高拷贝数量存在于线粒体中，严格遵守母系遗传方式，具有进化速率较核基因快，基因顺序和组成保守性高等特点，是昆虫进化和分子系统学研究的有效标记之一（程家安和唐振华，2001）。

秆野螟属 *Ostrinia* 隶属鳞翅目（Lepidoptera），草螟科（Crambidae），野螟亚科（Pyrausinae）。秆野螟属昆虫分布范围广泛，寄主种类繁多，全世界分布 21 种（Mutuura and Munroe，1970；Ohno，2003），其中我国记录 16 种（Mutuura and Munroe，1970；李伟华和高芬，1996；杨瑞生等，2007）。该属昆虫外部形态极其相似，仅依靠外部形态很难进行种间鉴定，建立其系统发育关系则更困难。Mutuura 和 Munroe（1970）利用该属雄性成虫外生殖器的结构差异及中足胫节的大小，将当时全球分布的 20 个种分为 3 个大群。在我国，秆野螟属的研究主要集中在生物学、传统分类的性状研究及个别种类新记录上（李伟华等，1982；李伟华和高芬，1983，1985；卢美榕和杨静全，1992），而系统进化和分子系统学方面的研究相对较少，除了姜仲雪和孟祥锋（1994）利用同工酶对秆野螟属内 5 个近缘种的应用研究报道外，未见其他类似报道，mtDNA-COⅡ基因在秆野螟属分子系统学方面的应用研究则更是空白。国外秆野螟属系统进化方面的研究主要集中在雌性成虫性信息素组分及触角电位生理反应（EAG）上（Fu *et al*.，2005；Tabata and Ishikawa，2005），利用 mtDNA-COⅡ基因探讨秆野螟属系统进化的研究较少。在不同物种间，同一基因的变异速率不同，研究同一属内近缘种间的遗传变异和系统发育关系将有助于该属系统分化的研究。本研究拟应用线粒体 COⅡ基因序列差异，探讨秆野螟属部分种类的遗传变异及系统发育关系，将有助于推动秆野螟属昆虫基础性研究的开展，促进我国秆野螟属分子系统学的深入研究。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫

本研究共采集秆野螟属螟虫 8 种，虫源的采集地点、采集数量及寄主见表 1。

1.2　试剂

DNA 提取所用试剂全部购自北京六合通生物公司；聚合酶为 Ex Taq 酶（5 U/μL），dNTP（2.5 mmol/L）、10 × Ex Taq buffer、Mg^{2+}（25 mmol/L）购自 TaKaRa 公司；PCR 扩增引物由上海生工生物工程技术服务公司（Sangon）合成；PCR 产物回收试剂盒购自 OMEGA 公司。

1.3　总基因组 DNA 提取

取鲜冻成虫 1 头，将翅剪掉，在研钵中加液氮充分研磨，粉末置于 1.5 mL 离心管中，加 800 μL 抽提液 A（0.25 mol/L 蔗糖，10 mmol/L EDTA，30 mmol/L Tris-HCl pH7.5）充分混合，离心（4 000 r/min，10 min，4 ℃），弃上清，保留沉淀。加入缓冲液 B（10 mmol/L Tris-HCl pH7.5，10 mmol/L EDTA，0.15 mol/L NaCl，1% SDS）700 μL，将沉淀充分悬浮，冰浴 30 min。用等体积酚∶氯仿∶异戊醇（25∶24∶1）抽提 3 次，分别离心（12 000 r/min，10 ~ 15 min，4℃），取上清液。用等体积氯仿∶异戊醇（24∶1）抽提 2 次，分别在 12 000 r/min，冷冻离心 10 ~ 15 min，取上清液。加 2 倍体积无水乙醇及 1/30 体积 3 mol/L KAc，轻轻摇匀，−20℃放置 40 min 以上，12 000 r/min 冷冻离心 10 min，弃上清夜，保留 DNA 沉淀。DNA 沉淀用 70% 冷乙醇 700 μL 洗涤 2 次，分别在 12 000 r/min 冷冻离心 5 min。DNA 沉淀真空干燥，用 50 μL TE 溶解 DNA，冷冻保存，备用。

1.4　PCR 扩增 COⅡ基因

扩增引物为昆虫线粒体 COⅡ基因的通用引物，上游引物 O-tleu：5′-TAGTGCAATGGATTTAAACC -3′，下游引物 O-tlys：5′-GTTTAAGAGA CCAGTACTTG-3′（Kim *et al*.，1999）。扩增反应体系为 50 μL，内含 10 × Ex Taq buffer（5 μL），Mg^{2+}（2.5 mmol/L），dNTP（20 mmol/L），上下游引物各 20 pmol，Ex Taq E（1.7U）以及模板 DNA 150 ng。扩增反应程序，首先在 96℃，预变性 3 min，接下来 35 个循环，每个循环包括 98℃，变性 20 s，退火温度 51.8℃，退火 30 s，然后 72℃延伸 3 min。循环结束后 72℃延伸 10 min，最后 4℃下保存样品。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

表 1 秆野螟属昆虫采集信息及其 COⅡ基因的 GenBank 登录号

Table 1 Data of *Ostrinia* spp. collected from China and GenBank accession numbers of their COⅡ genes

物种 Species	种群编号 Population code	标本签 Specimen voucher	采集地点/寄主 Collection sites/host plant	采集数量 Collection amount	COⅡ基因登陆号 GenBank accession no. of COⅡ gene
亚洲玉米螟 *O. furnacalis* (Guenée)	1	ACGZ3	吉林公主岭/玉米 Gongzhuling, Jilin/corn	231	EF626670
	2	ACGD11	广东广州/玉米 Guangzhou, Guangdong/corn	125	EF626671
	3	ACHN12	海南海口/玉米 Haikou, Hainan/corn	143	EF626672
	4	ACSNX9	陕西西安/玉米 Xi'an, Shaanxi/corn	156	EF626673
欧洲玉米螟 *O. nubilalis* (Hübner)	5	ECYN01	新疆伊宁/玉米 Yining, Xinjiang/corn	300	EU070917
	6	ECFR01	法国/玉米 France/corn	129	EU219734
苍耳螟 *O. orientalis* (Mutuura & Munroe)	7	CZOF01	内蒙古扎兰屯/苍耳 Zhalantun, Inner Mongolia/ *Xanthium sibiricum*	64	EF622418
豆秆野螟 *O. scapulalis* (Walker)	8	CSSF01	辽宁沈阳/葎草 Shenyang, Liaoning/ *Humulus scandens*	154	EF622419
酒花螟 *O. kurentzovi* (Mutuura & Munroe)	9	CZKM01	内蒙古扎兰屯/反枝苋 Zhalantun, Inner Mongolia/ *Amaranthus retroflexus* L.	15	EF622420
麻螟 *O. narynensis* (Mutuura & Munroe)	10	CZNA01	内蒙古扎兰屯/酸模叶蓼 Zhalantun, Inner Mongolia/ *Polygonum lapathifolium* L.	21	EU070916
刺菜螟 *O. zealis* (Guenée)	11	CSZE01	内蒙古扎兰屯/大刺儿菜 Zhalantun, Inner Mongolia/ *Cephalanoplos setosum*	19	EU070915
虎杖螟 *O. latipennis* (Warren)	12	CGSL01	河北围场/酸模叶蓼 Weichang, Hebei/ *Polygonum lapathifolium* L.	17	EU070914

1.5 PCR 产物回收及测序

利用 OMEGA 公司的 DNA 回收纯化试剂盒回收 PCR 产物,回收样品委托上海生工(Sangon)测序,测序仪为 ABI PRISM 3730 型,测序方法采用荧光测序方法,测序试剂盒为 BigDye® terminator v3.1。为了提高测序的精确性,采取正反链双向测通,测序引物同扩增引物。

1.6 COⅡ基因数据处理、分析及分子系统树的构建

将每个样品正反引物所测序列进行拼接,分别与 GenBank 中亚洲玉米螟 mtDNA 全序列(AF467260, Coates *et al*., 2002)比对,确认所得序列是否为目的基因。用 DNAMAN 对测得的序列进行处理,利用 PAUP4.0b10(Swofford,2002)和 MEGA 3.0(Kumar *et al*., 2004)分别分析各物种间 COⅡ基因的遗传距离(*p*-distance)和碱基的转换颠换数。分别采用 MEGA 3.0 软件包中的 UPMGA 法、邻接法(Neighbor-joining, NJ)和最大简约法(Maximum Parsimony,MP)构建分子系统发生树。从 NCBI GenBank 中选取蚕蛾科的家蚕 *Bombyx mori* COⅡ(AF149768,Lee *et al*.,1999)和桑野蚕 *Bombyx mandarina* COⅡ(AY708651,Gong *et al*., 2004)基因序列作为外群。

2 结果与分析

2.1 PCR 结果及 COⅡ基因序列的确定

分别以 8 个物种 12 个个体总 DNA 为模板,用通用引物进行 PCR 扩增,均得到了 750 bp 左右的片段,与预期的扩增结果相符,只有阴性对照没有出现条带,证明扩增的条带真实可靠。所有样品 PCR 结果如图 1 所示。测得的基因长度均为 755 bp。将各物种的基因序列在 NCBI 网站(www.ncbi.nlm.nih.gov/)上进行 BLAST 相似性搜索,结果显示所得序列包括 5′端的部分 tRNA-leu. 基因序列(31 bp)、完整的 COⅡ基

因和 3′端的部分 tRNA-lys. 基因序列(42 bp)。利用 DNAman 软件将所得到的序列与亚洲玉米螟 mtDNA 全序列进行比对,剪切掉 5′端的 tRNA-leu. 基因序列和 3′端的 tRNA-lys 基因序列,得到全长为 682 bp 的 COⅡ基因序列。8 个物种 12 个样品的 COⅡ基因序列已经提交到 NCBI GenBank 数据库,登录号见表 1。

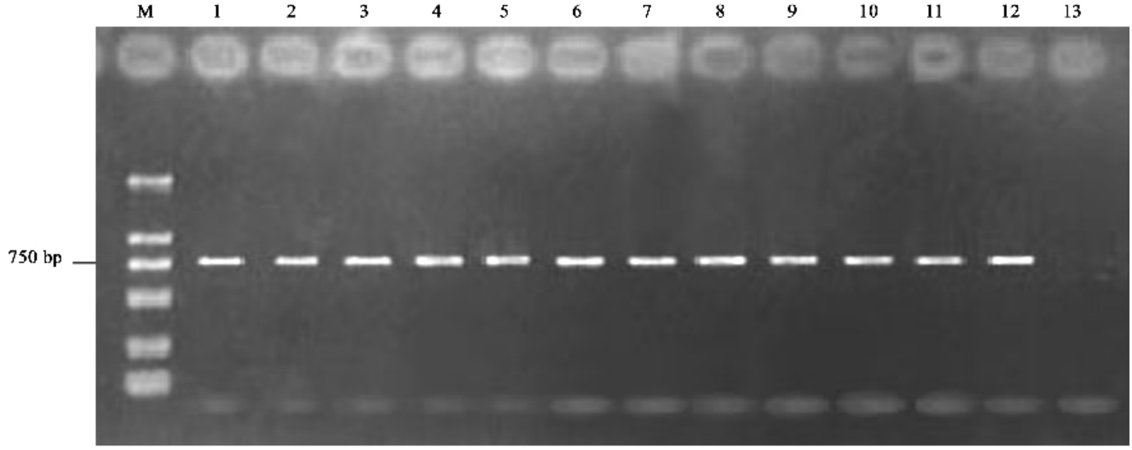

图 1　8 个物种 12 个种群的 12 个样品 COⅡ基因 PCR 产物的电泳结果

Fig. 1　The electrophoresis results of COⅡ gene PCR products of 12 individuals from 12 populations of 8 species from China

M：分子量标准 DNA marker DL2000；1～12：12 个样品 PCR 扩增产物 PCR products of 12 individuals；13：PCR 阴性对照 Negative control.

2.2　COⅡ基因序列及其变异分析

秆野螟属昆虫 mtDNA-COⅡ基因序列全长 682 bp,起始密码子为 AUA,共编码 227 个氨基酸,其中 5 个发生了变异,变异率为 2.2%。氨基酸组成上,8 个物种均含有 20 种氨基酸。COⅡ基因与 5′端的 tRNA-leu 基因、3′端的 tRNA-lys 间均无核苷酸间隔。

比较 8 个物种 12 个样品的 COⅡ基因序列,682 个核苷酸位点中没有碱基插入或缺失现象,其中有 56 个核苷酸位点为多态性位点,占全部位点的 8.2%。碱基组成上,A,T,C 和 G 平均含量分别为 38.6%,38.7%,12.6% 和 10.1%。A + T 含量为 77.3%,G + C 含量为 22.7%,表现出明显的 A + T 含量偏向性。

本研究中,亚洲玉米螟 4 个不同地理种群间碱基差异位点 0～2 个,遗传距离在 0～0.0029 之间;2 个欧洲玉米螟种群间碱基差异位点 3 个,遗传距离为 0.0044;种间遗传距离最小的发生在欧洲玉米螟中国新疆种群与苍耳螟之间、酒花螟与麻螟之间,均为 0.0015,其次是苍耳螟与豆秆野螟、欧洲玉米螟中国新疆种群与酒花螟、豆秆野螟与酒花螟、苍耳螟与麻螟之间,均为 0.0044,种间距离最大的发生在酒花螟与虎杖螟之间,为 0.063。秆野螟属与蚕蛾科的家蚕与桑野蚕两种昆虫之间的遗传距离在 0.1070～0.1261,明显大于属内种间的遗传距离(表 2)。

表 2　秆野螟属 12 个样品及外群物种的遗传距离(*p*-Distance)

Table 2　Genetic distance (*p*-Distance) among 12 individuals in genus *Ostrinia* and out-group species

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1														
2	0.0000													
3	0.0029	0.0029												
4	0.0000	0.0000	0.0029											
5	0.0103	0.0103	0.0117	0.0103										
6	0.0059	0.0059	0.0089	0.0059	0.0044									
7	0.0089	0.0089	0.0103	0.0089	0.0015	0.0030								
8	0.0104	0.0104	0.0119	0.0104	0.0029	0.0074	0.0044							
9	0.0150	0.0150	0.0164	0.0150	0.0044	0.0089	0.0059	0.0044						
10	0.0134	0.0134	0.0149	0.0134	0.0029	0.0074	0.0044	0.0030	0.0015					
11	0.0090	0.0090	0.0104	0.0090	0.0104	0.0089	0.0089	0.0104	0.0150	0.0134				
12	0.0533	0.0533	0.0564	0.0533	0.0581	0.0566	0.0566	0.0581	0.0630	0.0613	0.0568			
13	0.1232	0.1232	0.1246	0.1232	0.1217	0.1246	0.1217	0.1232	0.1261	0.1246	0.1232	0.1114		
14	0.1188	0.1188	0.1202	0.1188	0.1173	0.1202	0.1173	0.1188	0.1217	0.1202	0.1188	0.1070	0.0073	

1－12 所指种类参见表 1;13,14 分别为家蚕和桑野蚕两个外群参照。Species code numbers 1－12 refer to Table 1;13 and 14 stand for the two outgroups,mulberry silkworm and mulberry wild silkworm,respectively. 下表同 The same for the following table.

如表 3 所示，杆野螟属 8 个物种 COⅡ 基因变异中转换数(Transition，Ts)明显高于颠换(Transversion，Tv)，只有亚洲玉米螟种内不同地理种群之间的变异以颠换为主。转换的发生以 T←→C 为主，少数为 A←→G 间的转换；颠换的发生以 A←→T 为主，其次是 A←→C，仅有少数颠换发生在 G←→T 间，8 个物种 12 个样品中没有 G←→C 颠换的发生。

2.3 分子系统树的建立

分别利用 UPGMA，NJ 和 MP 法对杆野螟属的 8 个物种及蚕蛾科 2 个外群物种的 mtDNA-COⅡ 基因序列进行比较分析，得到了相应的分子系统树，Bootstrap1 000 次重复检验各个分支的置信度，得到的置信度在 51 ~ 100 之间(图 2)。虽然 3 种方法得到的分子系统树拓扑结构有所不同，但物种之间的系统发生关系却基本一致。其中用 NJ 和 MP 法得到的分子系统发育树显示的各物种之间的系统关系完全一致。3 个系统树表明，杆野螟属 8 种螟虫的 12 个样品聚在一起，与蚕蛾科的 2 个外群物种明显分开，形成 2 个大的分支，杆野螟属内部，8 种昆虫分为 2 个大群，虎杖螟与其他 7 个物种亲缘关系最远，单独形成一个群，在另外一个大群中又分为 3 个亚群，亚洲玉米螟的不同地理种群首先聚在一起形成一个亚群，酒花螟与麻螟亲缘关系最近聚在一起，二者与欧洲玉米螟、苍耳螟和豆杆野螟亲缘关系较近聚在一起形成一个亚群，刺菜螟在该大群内与其他种亲缘关系最远单独形成一个亚群。

3 讨论

Jermiin 和 Crozier(1994)通过研究认为昆虫线粒体 COⅡ 基因的 A + T 含量存在明显的进化趋势，即昆虫由低等的目到高等的目 A + T 含量有逐渐升高的趋势。本研究得到的杆野螟属线粒体 COⅡ 基因 A + T 含量为 77.3%，均高于较鳞翅目原始的缨尾目、直翅目、弹尾目、缨翅目、双翅目、同翅目等昆虫(表 4)，基本符合 Jermiin 和 Crozier(1994)的研究的结果。

相对于外部形态特征，生物的遗传物质具有更大的稳定性，并存在着严格的种间差异。随着分子生物技术的迅速发展和 PCR 技术的诞生，mtDNA 相关基因的研究已经成为目前许多传统研究领域的重要辅助手段。Kim(1997)利用 mtDNA-COⅡ 基因序列对分布于日本的杆野螟属种类以及欧洲玉米螟进行了系统发育研究，得到了两个大群：虎杖螟与其他物种亲缘关系最远，单独形成一个分支；在另外一个大群中亚洲玉米螟与其他物种亲缘关系较远，单独形成一个亚群，而与苍耳螟、欧洲玉米螟、豆杆野螟和刺菜螟则亲缘关系较近聚在一起，形成一个亚群，如图 3 B 所示，与本研究所得到的系统发育关系基本一致。Fu 等(2005)在对分布于日本的 7 种杆野螟属昆虫雌性性信息素的遗传机制研究中发现，豆杆野螟、苍耳螟与欧洲玉米螟的遗传机制非常相似，表明 3 种昆虫的亲缘关系较近，与本研究结果一致。

Mutuura 和 Munroe(1970)利用雄性成虫的外生殖器结构将杆野螟属分为 3 个群(组)，在第 3 群(组)中，又根据雄性成虫中足胫节的大小分为 3 个亚群(组)，如图 3 A 显示，第 2 和 3 群之间的发育关系和本研究的结果完全一致，即第 2 群中的虎杖螟雄性成虫外生殖器爪形突不分裂，呈舌状，单独形成一个群，雄成虫外生殖器爪形突三分裂的亚洲玉米

表 3 杆野螟属 COⅡ 基因序列差异(上三角为转换数/颠换数；下三角为碱基差异的总数)

Table 3 Divergence of COⅡ gene sequences from genus *Ostrinia* (upper triangle：Ts/Tv；lower triangle：total number of divergent base)

序号 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		0/0	0/2	0/0	7/0	4/0	6/0	6/1	9/1	8/1	6/0	21/13
2	0		0/2	0/0	7/0	4/0	6/0	6/1	9/1	8/1	6/0	21/13
3	2	2		0/2	6/2	4/2	5/2	5/3	8/3	7/3	5/2	21/17
4	0	0	2		7/0	4/0	6/0	6/1	9/1	8/1	6/0	21/13
5	7	7	8	7		3/0	1/0	1/1	2/1	1/1	7/0	24/13
6	4	4	6	4	3		2/0	4/1	5/1	4/1	6/0	23/13
7	6	6	7	6	1	2		2/1	3/1	2/1	6/0	23/13
8	7	7	8	7	2	5	3		3/0	2/0	6/1	23/14
9	10	10	11	10	3	6	4	3		1/0	9/1	26/14
10	9	9	10	9	2	5	3	2	1		9/1	25/14
11	6	6	7	6	7	6	6	7	10	10		23/13
12	34	34	38	34	37	36	36	37	40	39	36	

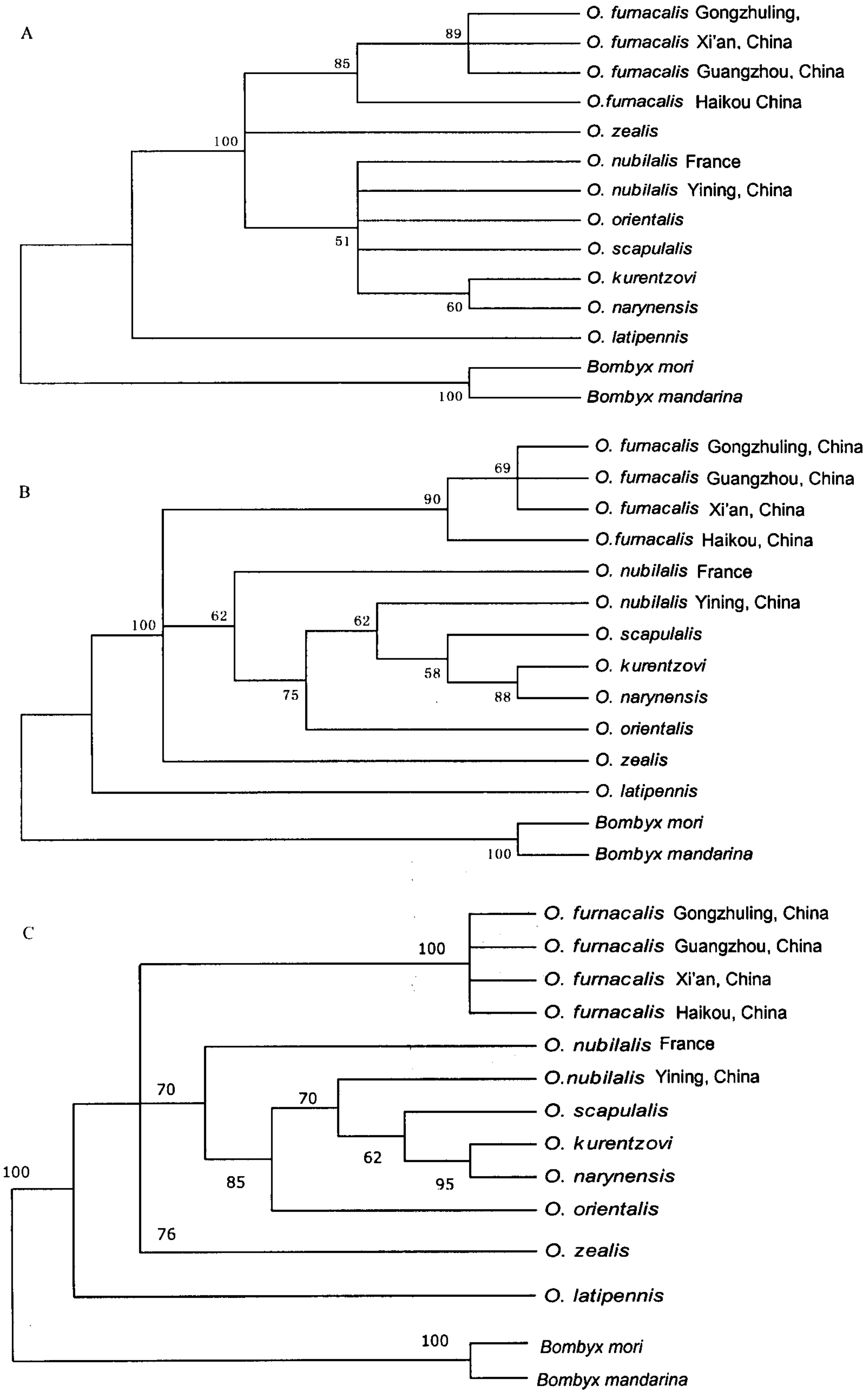

图 2 秆野螟属 8 个种 12 个样品 mtDNA-COⅡ基因分子系统树

Fig. 2 Molecular phylogeny of 12 specimens from genus *Ostrinia* based on mtDNA-COⅡ gene

A：UPGMA **法构建的分子系统树** Phylogeny based on UPMGA method；B：NJ **法构建的分子系统树** Phylogeny based on NJ method；C：MP **法构建的分子系统树（节点数字表示** 1 000 **次自检验的置信度）** Phylogeny based on MP method (Numbers on branch nodes denote bootstrap value for 1 000 replications).

表 4 秆野螟属 8 种螟虫与其他昆虫 COⅡ基因 A + T 含量比较

Table 4 Comparison of A + T content in COⅡ gene between 8 *Ostrinia* species and other insects

所属目 Order	种名 Species	基因登录号 GenBank accession no.	COⅡ基因 A + T 含量(%) Content of A + T in COⅡ gene
缨尾目 Thysanura	*Tricholepidion gertschi*	NC_005437	69.2
直翅目 *Orthopteria*	*Locusta migratoria*	NC_001712	71.0
弹尾目 Cinura	*Gomphiocephalus hodgsoni*	NC_005438	71.5
缨翅目 Thysanoptera	*Thrips imaginis*	NC_004371	72.8
双翅目 Diptera	*Anopheles gambiae*	NC_002084	73.2
双翅目 Diptera	*Drosophila yakuba*	NC_001322	73.8
同翅目 Homoptera	*Philaenus spumarius*	NC_005944	73.8
鞘翅目 Coleoptera	*Crioceris duodecimpunctata*	NC_003372	73.9
鞘翅目 Coleoptera	*Pyrocoelia rufa*	NC_003970	75.6
鳞翅目 Lepidoptera	*Antheraea pernyi*	NC_004622	76.4
鳞翅目 Lepidoptera	*Ostrinia nubilalis*	NC_003367	77.0
鳞翅目 Lepidoptera	*Ostrinia furnacalis*	NC_003368	77.2
鳞翅目 Lepidoptera	*Ostrinia* spp.	EF626670 – 73 EF622418 – 20 EU070914 – 17	77.3*

*：为本研究结果，秆野螟属昆虫 COⅡ基因 A + T 平均含量 Average content of A + T in COⅡ genes of the genus *Ostrinia* in this study.

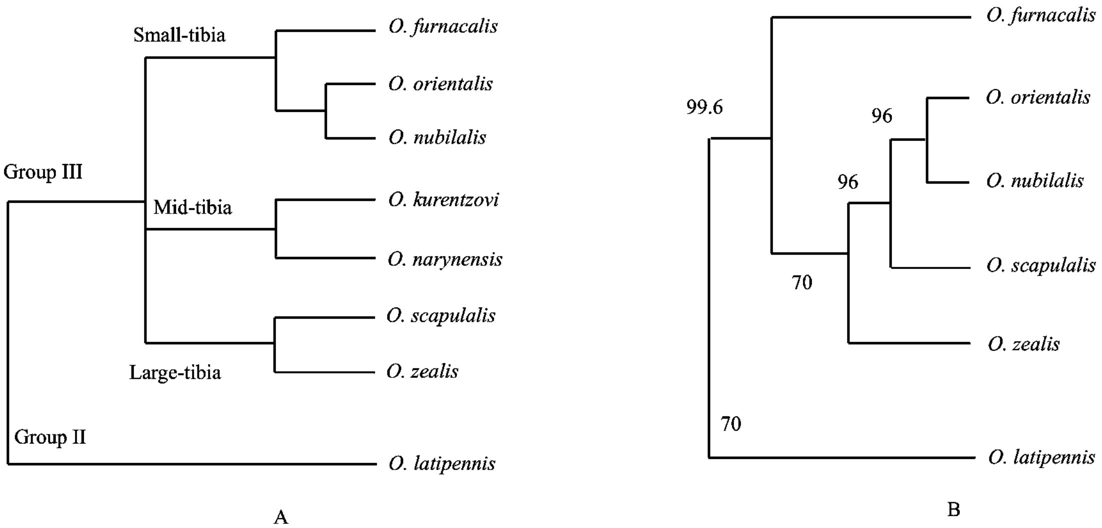

图 3 秆野螟属部分种类系统发生关系

Fig. 3 Phylogenetic relationships of partial *Ostrinia* spp.

A：根据成虫形态特征建立的系统发生树(Mutuura and Munroe，1970) Based on morphological data (Mutuura and Munroe, 1970)；
B：根据 mtDNA-COⅡ基因序列建立的系统发生树(Kim，1997) Based on mitochondrial DNA-COⅡ gene sequences (Kim, 1997).

螟等则归在一起为第 3 群；在第 3 群内，由于酒花螟和麻螟 2 个物种雄性成虫的中足胫节均中度膨大，中足胫节沟槽内的毛丛较中足胫节短，Mutuura 和 Munroe(1970)认为二者亲缘关系较近，故将其聚在一起形成第 3 群中的一个亚群，与本研究的结果完全一致。然而，本研究建立的系统树中雄蛾中足胫节不膨大的种类(亚洲玉米螟、欧洲玉米螟与苍耳螟)与膨大种类中的豆秆野螟亲缘关系较近，聚在一起形成属内的一个亚群，这与 Mutuura 和 Munroe (1970)研究的结果有所不同，值得进一步深入研究和探讨。

本研究中，虽然亚洲玉米螟 4 个地理种群聚在一起，形成了属内一个大的枝丛，但很明显，公主岭、广州和西安种群亲缘关系较近聚在一起，而海南种群亲缘关系则相对较远(如图 2A 和 2B 所示)。分析原因可能是公主岭、广州和西安均在内地，种群间存在着基因交流，而海南为一四面环海、地理位置相对孤立的岛屿，与我国内地有琼州海峡相隔，基因交流有限所致。

参 考 文 献 (References)

Bu Y, Zheng ZM, 2005. Roles and status of cytochrome oxidase Ⅱ gene in

the research of insect molecular systematics. *Entomol. Knowl.*, 42 (1)：18 – 22. [卜云，郑哲民，2005. CO Ⅱ 基因在昆虫分子系统学研究中的作用和地位. 昆虫知识，42(1)：18 – 22]

Cheng JA，Tang ZH，2001. Molecular Science of Entomology. Science Press，Beijing. 1 – 44. [程家安，唐振华，2001. 昆虫分子科学. 北京：科学出版社，1 – 44]

Fu XY，Tatsuki S，Hosizaki S，Ishikawa Y，2005. Study of the genetics of female sex pheromone production and male behavioral response in a moth，*Ostrinia orientalis*. *Entomol. Sci.*，(8)：363 – 369

Jermiin LS，Crozier RH，1994. The cytochrome b region in mitochondrial DNA of the ant *Teraponera ruforniger*：sequence divergence in Hymenoptera may be associated with nucleotide content. *J. Mol. Evol.*，38：182 – 294.

Jiang ZX，Meng XF，1994. Study on application of allozyme of 5 allied species of genus *Ostrinia*. *J. Henan Agri. Univ.*，28 (1)：1 – 7. [姜仲雪，孟祥锋，1994. 秆野螟属五种近缘种的同工酶及其在分类上的应用研究. 河南农业大学学报，28(1)：1 – 7]

Kim C，1997. Molecular Phylogenetic Studies on Evolution and Speciation in the Asian Corn Borer and Its Allied Species. PhD Dissertation，Tokyo University.

Kim C，Hoshizaki S，Huang YP，Tatsuki S，Ishikawa Y，1999. Usefulness of mitochondrial CO Ⅱ gene sequences in examining phylogenetic relationships in the Asian corn borer，*Ostrinia furnacalis*，and allied species (Lepidoptera：Pyralidae). *Appl. Entomol. Zool.*，34 (4)：405 – 412

Kumar S，Tamura K，Nei M，2004. Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinform.*，5 (2)：150 – 163

Li WH，Gao F，1983. Identification of Asian corn borer and allied species in China. *Plant Protection*，(6)：14 – 15. [李伟华，高芬，1983. 我国玉米螟及其近缘种的识别. 植物保护，(6)：14 – 15]

Li WH，Gao F，1985. Function of different taxonomic properties in identifying the corn borer species inhabiting China. *Plant Protection*，1：27 – 28. [李伟华，高芬，1985. 不同分类性状在确定我国玉米螟种类中的作用. 植物保护，1：27 – 28]

Li WH，Gao F，1996. Identification of the known species in genus *Ostrinia* inhabiting China. *Plant Protection*，22 (4)：40 – 42. [李伟华，高芬，1996. 秆野螟属(*Ostrinia*)中国已知种的识别. 植物保护，22(4)：40 – 42]

Li WH，Liu BL，Gao F，1982. Investigation on Asian corn borer and allied species. *Plant Protection*，(6)：10 – 11. [李伟华，刘宝兰，高芬，1982. 新疆玉米螟及其近缘种调查. 植物保护，(6)：10 – 11]

Li WD，Tang DZ，1985. A new species record：*Ostrinia kasmirica*. *Entomotax.*，7(11)：24. [李文德，唐德智，1985. 克什米尔玉米螟—中国新记录. 昆虫分类学报，7(11)：24]

Li ZX，Shen ZR，2002. Application of rDNA-ITS2 sequences to the molecular identification of *Trichogramma* spp. *Acta Entomol. Sin.*，45 (5)：559 – 566. [李正西，沈佐锐，2002. 赤眼蜂分子鉴定技术研究. 昆虫学报，45(5)：559 – 566]

Lu MR，Yang JQ，1992. A new species of Asian corn borer in Yunnan province. *J. Yunnan Agri. Univ.*，7 (1)：28 – 29. [卢美榕，杨静全，1992. 亚洲玉米螟一近缘种云南新记录. 云南农业大学学报，7(1)：43 – 45]

Mutuura A，Munroe E，1970. Taxonomy and distribution of the European corn borer and allied species：genus *Ostrinia* (Lepidoptera：Pyralidae). *Mem. Entomol. Soc. Can.*，71：1 – 112

Ohno S，2003. A new knotweed-boring species of the genus *Ostrinia* Hübner (Lepidoptera：Crambidae) from Japan. *Entomol. Sci.*，6：77 – 83.

Swofford DL，2002. PAUP* 4.0：Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other methods)，version 4.0. Sinauer Associates，Sunderland，Massachusetts.

Tabata J，Ishikawa Y，2005. Genetic basis to divergence of sex pheromones in two closely related moths，*Ostrinia scapulalis* and *O. zealis*. *J. Chem. Ecol.*，(31) 5：1 111 – 1 124

Yang RS，Wang ZY，He KL，2007. Advances in phylogenetic and taxonomic studies on genus *Ostrinia*. *Plant Protection*，33 (2)：20 – 26. [杨瑞生，王振营，何康来，2007. 秆野螟属(*Ostrinia*)系统进化与分类研究进展. 植物保护，33(2)：20 – 26]

（责任编辑：袁德成）